Der quantitative Nachweis von Brucellen in der Milch banginfizierter Rinder

Wulf, Ernst-Gustav Schwerdtfeger

1964

Aus dem Hygienischen Institut der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Adolf Meyn

DER QUANTITATIVE NACHWEIS VON BRUCELLEN IN DER MILCH BANGINFIZIERTER RINDER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Wulf, Ernst-Gustav Schwerdtfeger

aus

Hildesheim/Kreis Hannover

München 1963

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. K. Ullrich

Referent: Prof. Dr. A. Meyn

Tag der Promotion: 26. Juli 1961

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung 1

II. Besprechung der Literatur 2

A. Verschiedene Nährböden und Methoden zur Züchtung der Abortus-Bang-Bakterien 2

B. Über das Vorkommen von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch, deren quantitative Bestimmung, sowie Vergleiche zwischen der Brucellenausscheidung mit der Milch und den Ergebnissen milchserologischer Untersuchungen 6

III. Eigene Untersuchungen 12

A. Untersuchtes Material 12

B. Untersuchungsmethoden 12

C. Ergebnisse der eigenen Untersuchung 14

IV. Besprechung der Ergebnisse 25

V. Zusammenfassung 31

VI. Literaturverzeichnis 32

Lebenslauf 40

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555620_0046

I. EINLEITUNG

Neben der Bekämpfung der Rindertuberkulose ist auch die Bekämpfung der Brucellose in dem letzten Jahrzehnt stark intensiviert worden. Abgesehen davon, daß diese Seuche erhebliche wirtschaftliche Schäden verursacht, bedeutet sie auch für die menschliche Gesundheit eine große Gefahr. Als Ursachen für die menschlichen Bangerkrankungen können Kontaktinfektionen und der Konsum von brucellenhaltiger Milch und Milchprodukten in Betracht kommen. Kühe, die die Abortus-Bang-Erreger im Euter beherbergen, scheiden diese Keime in der Regel auch mit der Milch aus. Die Infektiosität einer solchen Milch hängt weitgehend von der Menge der darin enthaltenen Brucellen ab.

Um ermessen zu können, welche Bedeutung der Milch banginfizierter Kühe als Infektionsquelle für Mensch und Tier zukommt, sind die folgenden Untersuchungen über den quantitativen Nachweis von Brucellen in der Milch durchgeführt worden.

II. BESPRECHUNG DER LITERATUR

A. Verschiedene Nährböden und Methoden zur Züchtung der Abortus-Bang-Bakterien

Seit der Entdeckung des Erregers des seuchenhaften Verkalbens des Rindes sind zur Züchtung der Brucellen die verschiedensten Nährböden und Methoden erprobt und verwendet worden.

1. Flüssige Nährböden

Anfänglich wurde versucht, die Abortus-Bang-Bakterien auf den gebräuchlichen flüssigen Nährmedien aus Fleischwasser, Kochsalz und Peptonen zu züchten. Bang und Strieboldt (3) konnten auf diese Weise im Jahre 1897 zum ersten Mal Abortus-Bang-Bakterien in Reinkultur nachweisen. Der diagnostische Wert dieser Untersuchungen wurde aber durch die zu lange Bebrütungszeit geschmälert. Bis zur sichtbaren Trübung des flüssigen Nährmediums vergingen oft bis 96 Stunden. Aus tierischen Untersuchungsmaterial nahm die Züchtung manchmal mehrere Wochen in Anspruch; die Kolonien wuchsen nicht sehr üppig und es entstanden frühzeitig Involutionsformen (Löffler, Moroni, Frei (42)). Häufig wurde die Auswertung dieser Versuche durch das Auftreten von Begleitbakterien und Schimmelpilzen verhindert. Diese überwucherten die Medien und hemmten gleichzeitig das Wachstum der Brucellen.

2. Feste Nährböden

Der quantitative Nachweis der Abortus-Bang-Bakterien in der Milch infizierter Rinder ist nur durch kulturelle Methoden auf festen Nährmedien möglich. Im Laufe der Zeit sind die verschiedensten Zusammensetzungen solcher Nährböden empfohlen worden. Die damit erzielten Erfolge waren sehr unterschiedlich. Zwick und Zeller (70) benutzten 1912 anstelle des bis dahin vielfach verwendeten Rinderserums Amnion-Flüssigkeit als Nährbodenzusatz, die beim Sterilisieren nicht gerann. Gargani und Domini (16) hatten bei ihren Brucellenzüchtungen mit einem festen Fleischwasseragar mit Bactopepton und 10 % Pferdeserum gute Erfolge. Sie setzten Serum, Ascitis- oder Amnionflüssigkeit hinzu. 1915 hat Miss

Evans (11) Milch-Zuckeragar und Serumzusatz als festen Nährboden beschrieben. Kerby, Calder (32) (1940) und Marucco (43) (1939) empfehlen die Zugabe von sterilisierter Milch, da Milch oder auch Kasein-Natriumphosphat als Nährbodenbestandteil das Wachstum der Brucellen zu fördern scheinen. Neben Bouillon und Fleischwasseragar sind Milz und Hirnabkochungen für die Brucellenzüchtung geeignete Nährbodenbestandteile. Eyre (13) beschreibt einen festen Eier-Nährboden. Huddleson (25) verwandte 1943 die Leberinfusionsbrühe nach Stafseth (56), die aus Rinderleber hergestellt wird, als Grundlage eines Nährbodens und setzte Pepton und Kochsalz hinzu. Die Vermehrungsfähigkeit der Brucellen beruht hier darauf, daß beim Kochen der Leber freie Aminosäuren, Kohlehydrate, Vitamine und Spurenelemente in Lösung gehen. Gargani und Domini (16) empfehlen 1954 zur Isolierung der Brucellen Kartoffelagar, nachdem sie Albimi-Agar, Agar-Rindfleischbouillon und Pferdeserum und Leberagar miteinander verglichen haben.

1918 hatten Stickel und Meyer (59) festgestellt, daß durch peptische und tryptische Verdauung des im Nährboden enthaltenen Eiweißes die Vermehrungsbedingungen für Brucellen günstiger werden. Auf ähnlichen Gedanken beruht die Entwicklung von Peptonen, die nicht nur durch peptische Verdauung von Eiweißsubstanzen hergestellt, sondern außerdem noch durch eine nachfolgende tryptische Verdauung weiter aufgeschlossen werden.

Auch in Amerika brachte die Industrie in denselben Jahren einige feste Nährböden für die Brucellenzüchtung in den Handel, die auf ähnlicher Grundlage aufgebaut waren, wie z.B.:

a) Tryptose-Agar (Dieser Nährboden enthält Tryptose - ein tryptisch verdautes Pepton mit hohem Gehalt an Aminosäure, Dextrose, Kochsalz und Thiaminhydrochlorid als Wuchsstoff und Agar).

b) Trypticase-Soy-Agar (Dieser Nährboden enthält neben Kochsalz, Di-Natrium-Phosphat und Dextrose, Trypticase, ein aus Kasein durch tryptische Verdauung hergestelltes Pepton, das einen hohen Gehalt an Tryptophan hat und Phyton, ein Pepton, das aus Sojamehl gewonnen wird).

c) Brucella-Agar (Dieser Nährboden enthält neben Kochsalz, Natrium-Bisulphat und Dextrose ein Hefe-Autolysat und 2,0 % des tryptisch verdauten Peptons A (Wundt (65)).

Alle diese Nährböden werden in vielen Ländern der Welt immer häufiger zur Brucellenzüchtung verwendet. Dabei scheint gerade die Art des Peptons für die Eignung des Nährbodens ausschlaggebend zu sein.

3. Züchtungsmethoden

Neben der Zusammensetzung der Nährböden sind Sauerstoffspannung, PH-Wert und Bebrütungstemperatur wesentlich für das Züchten der Abortus-Bang-Bakterien aus dem Untersuchungsmaterial. Die Züchtung ergab besonders gute Resultate bei Veränderung der Sauerstoffspannung durch Erhöhung des Kohlendioxydanteils auf 10 %. Nach Sanders und Huddleson (50) wachsen in einer strömenden 100 %igen Sauerstoffatmosphäre auf einen wässerigen Tryptose-Glukose-Medium mit 5 %igem Thiamin-HCl-Zusatz die einzelnen Brucellentypen verschieden stark (Tryptose 1 - 3 %, Glukose 1 - 2 %, NaCl 0,5 %, PH-Wert 6,7, Temperatur 37 ° Celsius). Die Verwendung von reinem Stickstoff oder Kohlendioxydgas unterdrückte in diesem Medium das Wachstum aller Brucellentypen.

Erfolgreich ist auch das sogenannte biontische Verfahren mit Sauerstoffzehrern im abgeschlossenen Raum (Löffler, Moroni, Frei (42)).

Eine wesentliche Begünstigung des Brucellenwachstums erkannte man dem richtig gewählten PH-Wert des Nährbodens zu. Nach Klimmer (34) liegt dieser Wert bei 7,2 - 7,6; nach Löffler, Moroni, Frei (42) zwischen 6,8 und 7,2.

Ebenso ist die richtig gewählte Bebrütungstemperatur um 37 ° Celsius wichtig.

Die meist vorhandene Begleitflora mußte ebenfalls bekämpft werden. Alle zur Brucellenzüchtung verwendeten Nährböden sind daher durch besondere Zusätze gekennzeichnet, die das Wachstum der unerwünschten Keime unterdrücken oder hemmen sollen. Die Verwendung von gentianavioletthaltigen Selektivnährböden in Deutschland geht auf Zeller (66) zurück. Durch diesen Zusatz werden grampositive Bakterien im Wachstum stark gehemmt. Huddleson (25) hat 1920, später zusammen mit Hasley und Torrey (26) (1927) Gentianaviolett in Verbindung mit Leberagar zur Milchuntersuchung verwendet. Auch Kroll (38) empfahl 1930 Gentianaviolett als Zusatz.

Stockmayer (60) hat 1932 noch die gleichzeitige Zugabe von Malachitgrün zum Nährboden vorgeschlagen. Dadurch wurde die Selektivwirkung besonders gegenüber Galtstreptokokken verbessert.

Karsten und Bischoff (30) (1934) und Plate (45) (1934) züchteten auf diesen Gentianaviolett-Malachitgrün-Platten mit unterschiedlichem Erfolg Brucella abortus aus Milchproben. Auch Proescholdt (47) untersuchte Tausende von Milchproben auf Leberagar mit Gentianaviolett-Zusatz und

hatte dabei bis zu 80 % Erfolge. Haupt (19) verwandte 1931 Bromthymolblau und basisches Fuchsin (1 : 50 000) als Zusatz. Klimmer (35) beschreibt 1938 einen Nährboden, dem Viktoriablau zugegeben wurde. Bang und Bendixen (2) (1932) verwenden Glyzerin-Pepton-Bouillon-Agar, dem 10 % Pferdeserum zugesetzt wurde. Teilweise gaben sie diesem Nährboden Fuchsin hinzu, um die Begleitflora in ihrem Wachstum zu hemmen. Leider wurde dadurch auch das Wachstum der Brucellen negativ beeinflußt.

Während früher allgemein Farbstoffe (z.B. Gentianaviolett, Kristallviolett, Malachitgrün, Viktoriablau u.a.) als Hemmstoffe angewandt wurden, setzt man heute den Nährböden auch Antibiotika hinzu. Hess und Ruosch (22) haben 1952 ein Nährbodenrezept für einen Tryptose-Kristallviolettagar mit Penicillin-Zusatz empfohlen. Dieser "Penicillin-Nährboden" bewahrt die penicillinresistenten Brucellen vor der wachstumhemmenden Wirkung der anderen Penicillin empfindlichen Bakterien.

Kuzdas und Morse (38) entwickelten einen Spezial-Nährboden, das sogenannte "Milieu W", das neben Kristallviolett mehrere Antibiotika enthält. (Auf 1 Liter Albimi-Brucella-Agar kommen 100 mg Actidione, 25 000 E Bacitracin, 15 000 E Circulin Q-19, 6000 E Polymyxin B, 1,4 mg Kristallviolett). Bei der vergleichenden Erprobung hat sich nach Börger (5) das "Milieu W" gegenüber den anderen Nährböden als überlegen erwiesen. Der Zusatz verschiedener Antibiotika, die in ihrer Wirkung aufeinander abgestimmt sind, hemmt praktisch das Wachstum aller Mikro-Organismen mit Ausnahme der Brucellen so, daß diese auch aus stark verunreinigtem Untersuchungsmaterial rein gezüchtet werden können (Baumgartner (4)).

Im veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich wurde in letzter Zeit dieses "Milieu W" dadurch modifiziert, daß anstelle des Kristallvioletts ein Emulgator - das "Tween 40" - beigesetzt wurde. Einige Brucellenstämme sind stark farbstoffempfindlich. Ihr Wachstum wurde auf den normalen "Milieu W"-Platten gehemmt. Auf den mit Tween 40 modifizierten Nährböden können auch sie ungehemmt wachsen. Außerdem bewirkt der Emulgator eine bessere Verteilung des Milchfetts, wodurch die Wachstumsmöglichkeiten der Brucellen verbessert werden (Hess (20)).

B. Über das Vorkommen von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch, deren quantitative Bestimmung, sowie Vergleiche zwischen der Brucellenausscheidung mit der Milch und den Ergebnissen milchserologischer Untersuchungen

Anfangs konnte der Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch nur dadurch geführt werden, daß Meerschweinchen als Versuchstiere benutzt wurden. Smith und Fabyan (55) (1912), Schröder und Cotton (51) (1911), Zeller (66) (1923).

Im Jahre 1813 haben Zwick und Krage (69) aus der Milch dreier Kühe mit Hilfe von Schräg-Agar Brucellen kulturell nachgewiesen. In weiteren Versuchen infizierten sie Ziegen mit Abortus-Bang-Kulturen und beobachten die Ausscheidung der Bakterien durch die Milch über Monate hinaus. Euter und Milch blieben dabei grobsinnlich unverändert. Nach subcutanen und intravenösen Infektionen anderer Ziegen mit Abortus-Bang-Bakterien ließen sich schon innerhalb von 24 bis 48 Stunden Brucellen in der Milch nachweisen. Auch in diesen Fällen dauerte die Ausscheidung mehrere Monate an.

Wenige Jahre später erschienen in der Literatur genauere Angaben über Häufigkeit und Dauer der Ausscheidung, sowie über den Zusammenhang zwischen Ausscheidung von Brucellen und Aborten. 1917 fanden Schröder und Cotton (52), daß etwa 60 % der banginfizierten Kühe Bakterien mit der Milch ausscheiden. Die Ausscheidungsdauer war sehr unterschiedlich. Sie betrug eine Woche bis einige Monate. In einigen Fällen konnten die Brucellen auch 6 Jahre nach dem Abort noch in der Milch nachgewiesen werden. Bei diesen Versuchen entdeckten die Autoren, daß einige der infizierten Kühe bereits Monate vor dem Abort Brucellen ausschieden. Auch vermuteten sie, daß Brucellen in der Milch bei Kühen vorkommen könnten, die nie abortiert hatten. Steck (57) hat 1918 und 1920 solche Fälle bestätigt. Er vertritt die Ansicht, daß Brucellen als Bewohner gesunder Euterviertel bei gesunden Kühen auftreten und mit der Milch ausgeschieden werden können (Steck (57)).

Cooledge (10) (1916) untersuchte die Milch von 118 Kühen auf 7 Farmen; 27 % der Tiere waren Brucellenausscheider. Winkler (64) fand 1919, daß nur ein Teil der infizierten Kühe Brucellen ausschieden. Von 32 Tieren war das bei 13 Tieren der Fall, und zwar in der Regel nach dem Abort.

1919 erkannten Hart und Traum (18), daß Brucellen auch dann ausgeschieden werden können, wenn der Agglutinationstiter des Blutserums keinen Hinweis auf eine Infektion gibt. 1926 und 1927 berichtete Carpenter (6) (7) über Brucellose-Untersuchungen. Er impfte einen Bestand mit Abortus-Bang-Kulturen, von dem dann 38 % der Kühe Brucellen in der Milch enthielten. 86 % der Tiere zeigten eine positive Agglutination. In einem zweiten Bestand wurde nicht geimpft; hier schieden 36 % der Kühe Abortus-Bang-Bakterien aus. Carpenter berichtet in diesem Zusammenhang von Brucellenausscheidung auch bei nichttragenden Tieren. In einer Rinderherde, in der noch kein Tier verkalbt hatte, fand er zwei serologisch positive Reagenten, von denen einer Bakterien ausschied.

Bang und Bendixen (1) untersuchten 1928 die Milch von Kühen aus 6 akut verseuchten Rinderbeständen und fanden einen sehr unterschiedlichen Prozentsatz an Ausscheidern.

Bestand 1: Von 12 Kühen schieden 4 Tiere Brucellen aus.

Bestand 2: Von 18 Kühen schied 1 Tier Brucellen aus.

Bestand 3: Von 3 Kühen schieden 2 Tiere Brucellen aus.

Bestand 4: Von 16 Kühen schieden 7 Tiere Brucellen aus.

Bestand 5: Unter 4 Kühen befand sich ein Brucellenausscheider.

Bestand 6: Von 9 Kühen schieden 3 Brucellen aus.

In allen 6 Beständen zusammen betrug der Prozentsatz der Ausscheider 34,4 Prozent.

Nach Karsten (27) (1929) scheidet oft mehr als die Hälfte der infizierten Kühe Abortus-Bang-Bakterien mit der Milch aus; die Keimzahl ist sehr unterschiedlich; ein positiver Agglutinationstiter sei zumindest eine Begleiterscheinung bei diesen Bakterienausscheidern.

1930 bestätigt van der Hoeden (23) die Ansicht Stecks (57), daß Abortus-Bang-Bakterien im Euter nicht verkalbender Kühe, wie auch im Euter völlig gesunder Tiere vorkommen können. Für seine Untersuchung stand ihm die Milch eines Bestandes zur Verfügung, aus dem seit Jahren kein Abort gemeldet war. In einem Fall abortierte die Kuh erst 2 1/2 Monate nach Feststellung der Brucellen in der Milch. Ein Tier war Ausscheiderin, obwohl sie nie abortiert hatte und obwohl auch die serologischen Untersuchungen völlig negativ ausfielen.

In einem Bericht von Proescholdt (47) (1932) haben von 208 Kühen, in deren Milch Brucellen nachgewiesen werden konnten, 145 verkalbt. Die Zahl der quantitativ bestimmten Kolonien war sehr unterschiedlich. Der Autor konnte auch im Sekret trockenstehender Kühe Brucellen nachweisen. Nach Proescholdt zeigt ein positiver Milchtiter eine Ausscheidung an, aber auch bei negativem Michtiter können Abortus-Bang-Bakterien ausgeschieden werden. Auch andere Autoren stellten die Brucellenzahl in der Milch von Ausscheidern fest und versuchten Blut- und Milchserumtiter sowie Aborte in Beziehung zur Keimausscheidung zu bringen.

Schon 1922 wies Zeller (66) auf den Agglutiningehalt des Milchserums bei Banginfektionen hin. King und Caldwell (33) konnten allerdings zwischen Blutserumtiter und Höhe der Ausscheidung kein bestimmtes Verhältnis ermitteln. Dagegen kommt Gilman (17) 1930 zu dem Ergebnis, daß zwischen Milchserumagglutinationstiter und Brucellenausscheidung mit der Milch Beziehungen bestehen.

Lerche (41) (1931) fand unter 6 523 Kühen etwa 12,2 % ausscheidende Tiere. In einem Bestand von 31 Tieren waren es 50 %. Der Autor arbeitete dabei hauptsächlich mit dem Tierversuch. Die Brucellen wurden in der Milch schon kurze Zeit nach dem Abort oder der Geburt festgestellt, - etwa vom 6.-12. Tag an. Die Bang-Bakterien wurden aber nicht kontinuierlich ausgeschieden. Sie konnten tageweise in der Milch fehlen, andererseits erstreckte sich die Ausscheidungsdauer aber über lange Zeit hin. Durchschnittlich die Hälfte aller Kühe, die verkalbt hatten, enthielten Krankheitserreger auch in der Milch. Der Autor konnte die Keime aber auch in der Milch solcher Kühe nachweisen, die nicht trächtig waren oder normale Geburten hatten (Lerche (41)). Die Zahl der ermittelten Keime pro ml Milch betrug etwa 60 - 320.

Miss Evans (12) zählte 110 - 4399 Brucellen pro ml Milch, einmal sogar 50 000 Keime. Nach Gilman (17) (1930) kann die Brucellenabgabe durch einzelne oder alle vier Milchdrüsenviertel erfolgen. Sie ist anhaltend oder intermitierend.

1932 nahmen Bang und Bendixen (2) eingehende Untersuchungen über den Verlauf der Brucellenausscheidung vor. Sie berichteten, daß eine Kuh auch dann dauernd größerere Mengen von Abortus-Bang-Bakterien ausscheiden kann, wenn in der Milch keine Agglutinine vorhanden sind. Gewöhnlich würde aber die Brucellenausscheidung mit der Milch von einer Agglutininausscheidung begleitet werden. Die Zahl der ausgeschiedenen Keime wech-

selte. Im ml Milch wurden zwischen einigen wenigen und 30 000 Keime gefunden.

Bei Untersuchungen von drei Beständen mit insgesamt 37 Kühen wurden Blutserum-Agglutinationstiter und Brucellengehalt der Milch verglichen. Die Agglutinationstiter waren in den Eutervierteln, die Bang-Bakterien ausschieden am höchsten. Bei einem Titer von 1 : 200 schieden 8 Tiere Keime aus, ein Tier gab keimfreie Milch. Bei einem Titer von 1 : 100 wurden 13 Kühe erfaßt, 3 von ihnen schieden keine Brucellen aus.

Karsten (28) (1932) verwandte die Milchserumagglutination zur Ermittlung banginfizierter Bestände. Die vergleichsweise vorgenommenen kulturellen Milchuntersuchungen ergaben jedoch, daß 13,2 % der Brucellenausscheider negative Milchserum-Agglutinationswerte hatten. Bang-Bakterien sind nach Karsten in Milchproben umso wahrscheinlicher enthalten, je mehr agglutinin- und komplementbindende Antikörper darin nachgewiesen sind.

Klimmer (34) fand 1932 bei 38 Kühen, die mit der Milch Brucellen ausschieden 8 Tiere, bei denen die Blutagglutinine erst später erschienen, als die Bakterien in der Milch. Van Oiyen und Hofstra (44) (1934) behaupten, daß positive und negative Milchserumreaktionen mit der An- bzw. Abwesenheit von Brucellen in der Milch in Verbindung stehen.

Smith (52) stellt 1934 ebenfalls fest, daß der Agglutinationstiter des Blutserums eine Beziehung zur Ausscheidung von Brucellen hat. Je höher der Titer, desto größer die Möglichkeit einer Ausscheidung. Ähnlich könnte es sich auch mit der Milchserum-Agglutination verhalten, da ein Milchserumtiter von 1 : 200 oder mehr für eine Ausscheidung spräche; aber auch agglutininfreie Milch könnte gelegentlich Brucellen enthalten.

Auch Frei (15) wies im selben Jahr auf eine Beziehung zwischen Milchserumagglutinationstiter und Brucellenausscheidung hin.

1936 berichtete Stockmayer (60) über die Ergebnisse von Untersuchungen an 39 Milchkühen, die mit Brucella-Abortus infiziert waren. Systematisch untersuchte er die Milch 2 Laktationsperioden hindurch. Dabei zeigten sich große Unterschiede im Verhalten der einzelnen Tiere. Die Brucellenausscheidung setzte meist mit der Laktation ein. Die höchsten Keimzahlen bei den starken Ausscheidern waren stets in den ersten Tagen der Laktation festzustellen. Dann nahm die Keimzahl bis zum Ende der zweiten Woche langsam ab. Die Keime traten aber wiederholt in unterschiedlichen Abständen

wieder auf. So konnte die Ausscheidung über sechs Monate hinaus verfolgt werden. Manchmal ließen sich auch innerhalb der zweiten Laktationswoche erst Abortus-Bang-Bakterien in der Milch nachweisen; in einem Fall erst im Laufe des zweiten Monats. Die Keimzahl betrug zu Beginn der Laktation etwa 10 000 bis 20 000 pro ml Milch; später weniger als 2 000 bis vereinzelten Bakterien. Selbst bei blutserologisch negativ reagierenden Kühen konnten gelegentlich Brucellen in der Milch gefunden werden. Stockmayer scheidet die infizierten Tiere in Dauerausscheider und solche, die nur vereinzelt Keime ausscheiden.

Der quantitative Unterschied der Brucellenausscheidung durch die Milch nach Aborten, Frühgeburten (die Früchte blieben kurze Zeit am Leben) und Normalgeburten war nicht erheblich. Die stärkste Ausscheiderin war eine normalgebärende Kuh.

Über die Höhe der Keimausscheidung in Bezug zur Milchmenge konnte der Autor keine wesentliche Beziehung feststellen.

Nach Stockmayer scheint das Trockenstehen eine Vermehrung der Brucellen in der Milch zu bewirken. Dabei ist aber zu beachten, daß das Sekret dieser Tiere viel konzentrierter ist. Besonders bei zweitgebärenden Tieren fand Stockmayer häufig schon Monate vor der Geburt bzw. dem Abort Brucellen in der Milch.

Die Dauerausscheider wiesen hohe Milchserumagglutinationswerte auf, während diese Werte bei den Gelegenheitsausscheidern großen Schwankungen unterlagen. Bei manchen Tieren fehlte die Ausscheidung zeitweilig oder ständig, trotz hohem Milchserumtiter.

Nach Kästli (31) scheiden etwa 50 % der infizierten Kühe Bang-Bakterien mit der Milch aus. Kästli (31) gibt als Höchstwert etwa 10 000 Keime pro ml Milch an. Hess (21) errechnete 1953 bei Keimzahlbestimmungen bis zu Tausenden von Brucellen im ml Milch. Hess und Ruosch (22) (1952) ermittelten von 1 585 milchserologisch positiven Kühen 46 % als Ausscheider. Nach Sackmann (48) schieden von 1 755 milchserologisch positiven Kühen 778 Brucellen aus. Auch er schätzt etwa, daß 50 % der Milchreagenten Brucellenausscheider sind.

Die Frage, ob man zur kulturellen Untersuchung der Milch besser Anfangs-, Mittel- oder Endgemelk verwenden soll, taucht immer wieder auf. So konnte Tweed (62) im Anfangsgemelk häufiger Brucellen nachweisen als im Endgemelk. Bang und Bendixen (1) haben ebenfalls das Anfangs-

gemelk mit Erfolg zu Untersuchungen verwendet. Hingegen stellte Lerche (40) in 14 Fällen das Gegenteil fest. Nach Proescholdt (47) (1932) wurden in dieser Hinsicht keine Regelmäßigkeiten gefunden; in späteren Berichten gibt er die Verwendung von Endgemelk zur kulturellen Untersuchung an, weil darin die Keimzahl am höchsten sei.

Die Verwendung von Bodensatz oder Rahm der Milch wird in der Literatur sehr unterschiedlich beurteilt. Proescholdt (47) (1932) verwandte lieber das Milchsediment, Carpenter und Parschall (9) (1927) halten die Fettschicht für geeigneter. Klimmer (34) erzielte bei seinen Untersuchungen mit dem Bodensatz doppelt so viele Erfolge. Später berichtet Proescholdt (47), daß er nurmehr reine Milch verwendet. Die Ergebnisse mit dieser Untersuchungsmethode seien erfolgreicher und zeitsparender.

Daß brucellenhaltige Milch von oft als gesund angesehenen Tieren in die Marktmilch gelangen können, ist erklärlich. Untersuchungen von Proescholdt (47), Evans (11), Fleischner und Meyer (14), Winkler (62), Schwarz (53) Karsten (29) u. a. zeigen, wie erheblich diese Keimzahlen in der Marktmilch sein können. Es ist offensichtlich, welcher Infektionsgefahr die Milchverbraucher teilweise auch heute noch ausgesetzt sind. Huddleson, Hasley und Torrey (26) fanden Brucellen am häufigsten in der Sahne. 1922 wiesen Klimmer und Haupt (36) auf die Möglichkeit hin, daß Brucellen demnach auch in Molkereiprodukten wie Butter, Käse, Rahm und Quark enthalten sein können. Auch Carpenter und Boak (8) haben 1927 auf diesem Gebiet Versuche unternommen und dabei Brucellen in Milchprodukten gefunden.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Untersuchtes Material

Für die von Herrn Prof. Meyn gestellte Aufgabe, die Abortus-Bang-Bakterien quantitativ in der Milch banginfizierter Kühe nachzuweisen, hatte ich die Möglichkeit, einen dem Institut unterstellten Rinderbestand zu untersuchen. Die Tiere wurden eigens zur Erforschung von Problemen der Rinderbrucellose gehalten. Sie standen isoliert ständig unter Kontrolle und sind etwa im 5. Trächtigkeitsmonat mit 10 bis 15 Millionen Keimen des Brucella-Abortus-Stammes "544 WEYBRIDGE" konjunctival infiziert worden. Die Kühe, meist grau-braunes Höhenvieh, wurden nicht auf Milchleistung gefüttert, ihr Ernährungszustand war mittelmäßig. Es waren meist Kalbinnen mit Frühgeburten.

B. Untersuchungsmethoden

Da vor allem die Keimzahl in der Milch nachgewiesen werden sollte, wurde zum Nachweis der Abortus-Bang-Bakterien der Kulturversuch angewendet. Die zum Vergleich herangezogenen Abortus-Bang-Ringproben und die Frischmilch-Schnellagglutination sind gleichzeitig im Rahmen einer anderen Forschungsarbeit durchgeführt worden.

Die zu untersuchende Milch wurde nachmittags aus jedem einzelnen Viertel unter möglichst sterilen Kautelen getrennt in sterilisierte Glasflaschen gemolken. Der Unterschied des Keimgehaltes zwischen Morgenmilch und der Nachmittagsmilch hatte sich bei Probeausstrichen als so gering erwiesen, daß nurmehr nachmittags Milchproben genommen wurden.

Um eine durchschnittliche Keimzahl pro ml Milch zu erhalten, haben wir stets das jeweilige Viertel völlig ausmelken lassen, und von der gründlich durchgeschüttelten Milch die Probe entnommen. Besonders wurde darauf geachtet, daß die verwendeten Geräte keimfrei und die Hände des Melkers sauber waren. Außerdem durfte beim Melken die Zitzenmündung die Öffnung der Glasflasche nicht berühren und vor und während des Melkens kein Streu aufgeschüttet werden; besonders aus dem Streustaub stammen meistens die Schimmelpilze, die später die Nährböden so überwuchern können, daß die Kolonien oft nicht mehr zu bestimmen sind. Das zunächst durchgeführte Waschen der Zitzen mit alkohol-getränktem Wattebausch vor dem Melken

hat sich in Bezug auf den Gehalt der Proben an accidentiellen Keimen als nicht sehr wesentlich erwiesen und wurde später weggelassen.

Vergleichende Versuche mit Proben aus zentrifugierter Milch, aufgerahmter Milch und normaler Milch ergaben, daß der Keimgehalt etwa der gleiche, die Verunreinigungen bei aufgerahmter Milch aber größer waren. Für unsere Ausstriche verwendeten wir deshalb nur reine Milch. Außerdem treten bei dieser Methode im Vergleich zur Keimzahlbestimmung durch Rahmausstriche weniger Ungenauigkeiten auf. Zur Züchtung der Brucellen wurde die Modifikation des "Milieu W" (von Kuzdas und Morse (38)), des Vet. Bakteriologischen Instituts Zürich verwandt. Anstelle des ursprünglich vorgeschriebenen Kristallvioletts, das einige farbstoffempfindliche Brucellenstämme im Wachstum hemmt, wurde diesem Nährboden ein Emulgator - das "Tween 40" - zugesetzt. Er verbessert die Verteilung des Milchfetts und fördert dadurch auch das Wachstum der Brucellenstämme. Circulin konnte dem Nährboden nicht zugesetzt werden, da es im Handel nicht zu bekommen war. Der Nährboden wurde in Petrischalen ausgegossen.

Von den möglichst aseptisch gewonnenen Milchproben wurden mit sterilen Pipetten entweder 0,5 oder 0,3 ml Milch entnommen und auf den Nährböden mit einem Drigalski-Spatel ausgestrichen. Zur Erhöhung der Saugfähigkeit sind die Nährbodenplatten jeweils bis zu 48 Stunden vor Verwendung im Brutschrank getrocknet worden; die Dicke des Nährbodens betrug etwa 5 mm, so daß Risse vermieden werden konnten. Der Drigalski-Spatel wurde vor jedem Benutzen in Spiritus getaucht, abgeflammt und wieder abgekühlt. Dann wurde die Milch damit solange in den Nährboden einmassiert, bis seine Oberfläche trocken schien. Die Platten kamen in Zeissler-Töpfe. Die erforderliche CO_2-Spannung wurde durch eine mit eingeschlossener brennender Kerze erzeugt. Der Brucella-Abortus-Stamm "544-Weybridge" wächst unter diesen Bedingungen sehr gut. Nach etwa 4 - 7 Tagen Bebrütungszeit bei 37 °C waren die Kolonien bis zur sichtbaren Größe gewachsen.

Die Abortus-Bang-Bakterien wuchsen auf diesem Nährboden in kreisrunden, gewölbten, milchig-gelben-glasig-glänzenden Kolonien, deren Konsistenz verhältnismäßig weich war. Bei einiger Erfahrung ließen sie sich leicht von den Kolonien anderer Keimarten unterscheiden. In Zweifelsfällen und bei regelmäßig vorgenommenen Stichproben bedienten wir uns der Diagnostischen Agglutination mit spezifischem Serum und der Brucellenfärbung nach Wegener und Börger (63). Bei dieser Färbung mit Carbol-Fuchsin und 3 %iger Methylenblaulösung erscheinen die Brucellen kräftig rot, der Untergrund schwach bläulich, und die säurefesten Bakterien schwach rötlich.

Durchschnittlich waren die Kolonien nach fünf Tagen gut auszuzählen. Waren nur wenige Keime in der Milchprobe, dann erschienen die wenigen Kolonien schon am dritten/vierten Tag. Sie wuchsen also schneller und waren auch größer. Bei sehr großer Keimzahl aber konnte man sie erst nach fünf bis sechs Tagen gut erkennen und die zahlreichen Kolonien erschienen viel kleiner, wohl als Folge einer gegenseitigen Wachstumshemmung.

C. Ergebnisse der eigenen Untersuchung

Für den quantitativen Nachweis der Brucellen in der Milch wurden die Milchproben von 15 Kühen untersucht. Die erste Probeentnahme erfolgte möglichst bald nach Einsetzen der Laktation und wurde dann alle vier bis sechs Tage über Monate hin wiederholt.

Um eine bessere Übersicht zu schaffen, werden in dem folgenden Abschnitt zunächst die vorgenommenen Untersuchungen anhand von Tabellen für jede einzelne Kuh erläutert. Bei der Auswertung der Kolonien muß angenommen werden, daß der Ursprung jeder sichtbaren Kolonie ein Konglomerat mehrerer Abortus-Bang-Bakterien ist. Der wirkliche Keimgehalt im ml Milch ist also viel höher als die in den Tabellen angegebene Kolonienzahl. Außerdem muß darauf hingewiesen werden, daß die angegebenen Zahlen Mindestangaben sind. Sicher sind weit mehr Keime in den Milchproben vorhanden als Kolonien nachgewiesen werden konnten. Nicht zu vermeidende Mängel der Untersuchungsmethoden stellen eine weitere Fehlerquelle dar.

Im Rahmen einer anderen Aufgabe wurde die Milch der gleichen Tiere mit Hilfe der Abortus-Bang-Ringprobe (ABR) und der Frischmilch-Schnellagglutination (FMSA) untersucht. Die dabei gewonnenen Ergebnisse konnten mit den Kolonienzahlen verglichen werden und es ließen sich wertvolle Rückschlüsse ziehen. Von den laufend untersuchten 15 Kühen waren sechs Tiere Brucellenausscheider. Bei neun Kühen konnten keine Brucellen in der Milch nachgewiesen werden, so daß sie in der weiteren Besprechung in Tabellenform nicht berücksichtigt werden.

Tabelle Nr. 1

Untersuchungen über die quantitative Brucellenausscheidung mit der Milch

Zeichenerklärung:

I = vorderes, rechtes Euterviertel
II = vorderes, linkes Euterviertel
III = hinteres, rechtes Euterviertel
IV = hinteres, linkes Euterviertel
ABR = Abortus-Bang-Ringprobe
FMSA = Frischmilch-Schnellagglutination

Kuh Nr. 2: geboren am: 21. 3. 56 Brucellennachweis aus der Nachgeburt: positiv

gedeckt am: 5. 1. 58
verkalbt am: 14. 9. 58

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml:	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
1.10.58	I	272	2194	1.10.58	-	+
	II	261	2808		-	+
	III	205	2528		-	+
	IV	56	7888		-	+
8.10.58	I	280	15	6.10.58	+	+
	II	234	-		+	+
	III	140	-		-	+
	IV	105	-		+	+
14.10.58	I	194	7	14.10.58	+	+
	II	272	-		-	+
	III	150	-		+	+
	IV	130	-		-	+
20.10.58	I	245	20	20.10.58	+	+
	II	260	248		+	+
	III	256	-		+	+
	IV	104	-		+	+
28.10.58	I	270	36	27.10.58	+	+
	II	285	112		+	+
	III	275	14		+	+
	IV	75	326		+	+
6.11.58	I	72	-	7.11.58	+	+
	II	84	-		+	+
	III	68	-		+	+
	IV	40	-		+	+
20.11.58	I	74	-	21.11.58	+	+
	II	68	-		+	+
	III	82	-		+	+
	IV	35	-		+	+
27.11.58	I	282	3824	27.11.58	+	+
	II	264	2004		+	+
	III	52	3308		+	+
	IV	29	1448		+	+
4.12.58	I	78	2384	5.12.58	+	+
	II	84	2036		+	+
	III	56	816		+	+
	IV	40	2340		+	+

Tabelle Nr. 1 (Fortsetzung) Kuh Nr. 2

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
10.12.58	I	58	2830	12.12.58	+	+
	II	62	2964		+	+
	III	40	634		+	+
	IV	30	2368		+	+
15.12.58	I	72	2			
	II	91	-			
	III	55	-			
	IV	42	-			
18.12.58	I	27	716			
	II	40	972			
	III	42	176			
	IV	30	4846			

Auswertung der Tabelle:

Die Kuh hat nach einer Trächtigkeitsdauer von 252 Tagen verkalbt. Die erste Milchuntersuchung fand 14 Tage nach dem Abort statt. Zunächst ließ sich eine starke Keimausscheidung durch alle 4 Viertel feststellen. Die Kolonienhöchstzahl betrug 7 888 pro ml; nach 7 Tagen sind nur im Gemelk des vorderen rechten Viertels Keime nachweisbar (15 Kolonien); dann geringe Keimausscheidung unterschiedlich aus einzelnen Vierteln, während gleichzeitig andere Euterviertel keine Keime mit der Milch ausscheiden. Am 6.11. und 20.11. sind keine Brucellen nachweisbar. Nach 1 1/2 Monaten erfolgte wieder ein plötzlicher Keimanstieg in der Milch bis auf Werte um 4 000 Kolonien pro ml; danach ein langsames Absinken des Keimgehaltes; ein plötzlicher Abfall auf 2 Kolonien pro ml in der Milch des rechten Vorderviertels und am 18.12.58 wieder ein plötzlicher Anstieg bis auf 4 946 Kolonien. Die Zahl der ausgeschiedenen Keime sowie die Ausscheidung durch die einzelnen Euterviertel unterlag also starken Schwankungen. Die Abortus-Bang-Ringprobe und die Frischmilch-Schnell-Agglutination waren zur Zeit der Keimausscheidung ständig positiv. Noch nach 79 Tagen schied die Kuh mit unverminderter Stärke Brucellen mit der Milch aus.

Tabelle Nr. 2

Kuh Nr. 4 geboren am: 14. 4. 56 Brucellennachweis aus der Nachgeburt: positiv

gedeckt am: 12. 2. 58

verkalbt am: 12. 10. 58

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
13. 10. 58	I	125	-			
	II	170	-			
	III	200	2			
	IV	181	26			
22. 10. 58	I	135	-	22. 10. 58	-	+
	II	174	-		-	+
	III	195	4		-	+
	IV	185	30		+	+
29. 10. 58	I	224	-			
	II	280	-			
	III	235	-			
	IV	513	-			
10. 11. 58	I	52	-	13. 11. 58	+	+
Die Kuh steht	II	60	-		+	+
fast trocken	III	44	-		+	+
	IV	72	-		+	+
21. 11. 58	I	25	-	20. 11. 55	+	+
	II	30	-		+	+
	III	35	-		+	+
	IV	38	-		+	+
27. 11. 58	I	34	-	28. 11. 58	+	+
	II	29	-		+	+
	III	48	-		+	+
	IV	36	-		+	+
2. 12. 58	I	16	-	4. 12. 58	+	+
	II	24	-		+	+
	III	30	-		+	+
	IV	32	-		+	+
8. 12. 58	I	je 1 Reagenzglas	-	11. 12. 58	+-	+
	II	voll Milch	-		+-	+
	III		-		+-	+
	IV		-		+-	+

Auswertung der Tabelle:

Die Kuh Nr. 4 hat nach 242 Tagen verkalbt. Die erste Milchuntersuchung erfolgte 1 Tag nach dem Abort. Mit Einsetzen der Laktation schied die Kuh durch die beiden Hintervierte1 Brucellen mit der Milch aus. Die höchste Kolonienzahl betrug 30 pro ml; vom 29. 10. ab konnten keine Abortus-Bang-Bakterien mehr in der Milch nachgewiesen werden. Die ABR-Probe war stetig schwach positiv, die Frischmilch-Schnell-Agglutination dagegen stark positiv.

Tabelle Nr. 3

Kuh Nr. 29 geboren am: 2.1.56

gedeckt am: 3.1.58

verkalbt am: 1.8.58

Brucellennachweis aus der Nachgeburt: positiv

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
6.10.58	I	438	11	7.10.58	+	+
	II	430	10		+	+
	III	540	4		+	+
	IV	508	9		+	+
10.10.58	I	350	10	15.10.58	+	+
	II	355	10		+	+
	III	430	5		+	+
	IV	425	10		+	+
16.10.58	I	355	12	15.10.58	+	+
	II	362	-		+	+
	III	450	10		+	+
	IV	460	-		+	+
22.10.58	I	356	-	21.10.58		
	II	374	-			
	III	505	450			
	IV	484	112			
31.10.58	I	473	-	28.10.58	+	+
	II	408	-		+	+
	III	562	-		+	+
	IV	576	-		+	+
12.11.58	I	327	-	14.11.58	+	+
	II	332	-		+	+
	III	400	-		+	+
	IV	414	-		+	+
21.11.58	I	185	-	21.11.58	+	+
	II	188	-		+	+
	III	242	-		+	+
	IV	284	-		+	+
1.12.58	I	525	4	28.11.58	+	+
	II	462	2		+	+
	III	484	22		+	+
	IV	514	4		+	+
8.12.58	I	20	10	5.12.58	+	+
	II	20	6		+	+
	III	20	90		-	+
	IV	20	-		+	+
11.12.58	I	617	2	12.12.58	+	+
	II	694	4		+	+
	III	808	8		+	+
	IV	910	4		+	+
17.12.58	I	563	-			
	II	615	-			
	III	725	verunreinigt			
	IV	726	12			

Tabelle Nr. 3 (Fortsetzung) Kuh Nr. 29

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
19.1.59	I	329	-	22.1.59	+	+
	II	300	-		+	+
	III	455	-		+-	+
	IV	478	-		+-	+
26.1.59	I	465	8			
	II	444	-			
	III	607	30			
	IV	618	18			
2.2.59	I	434	2	6.2.59	+-	+
	II	393	6		+-	+
	III	495	36		+-	+
	IV	643	114		+	+
11.2.59	I	302	138			
	II	304	-			
	III	465	26			
	IV	478	418			
18.2.59	I	385	12			
	II	350	228			
	III	491				
	IV	805	68			

Auswertung der Tabelle:

Die Kuh hat nach 210 Tagen verkalbt. Die erste Milchuntersuchung erfolgte am 61. Tag nach dem Abort. Zunächst wurde eine geringe Keimausscheidung mit unterschiedlichen Werten unregelmäßig durch alle 4 Viertel festgestellt. Später war nurmehr durch einzelne Viertel eine Keimausscheidung zu vermerken. Vom 31.10. bis zum 21.11. konnten keine Brucellen in der Milch nachgewiesen werden. Ab 1.12. sind die Untersuchungen wieder positiv, die Kolonienzahlen schwanken; Kolonienhöchstzahl während der ganzen Ausscheidungszeit 450 pro ml. Bemerkenswert ist, daß die Hintervierte1 verhältnismäßig mehr Abortus-Bang-Keime mit der Milch ausscheiden als die Vorderviertel.

Die Abortus-Bang-Ringprobe und die FMSA waren positiv.
Noch nach 6 1/2 Monaten schied das Tier Brucellen in der gleichen Menge aus.

Tabelle Nr. 4

Kuh Nr. 31 geboren am: 22. 3.56 Brucellennachweis aus der Nachgeburt: positiv

gedeckt am: 29.11.57

verkalbt am: 1. 8.58

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
13.10.58	I	235	-	7.10.58	-	+
	II	210	34		+	+
	III	345	106		+	+
	IV	234	124		+	+
17.10.58	I	275	-	15.10.58	+-	+
	II	160	-		+	+
	III	282	776		+	+
	IV	250	1 364		+	+
23.10.58	I	235	-	21.10.58	+	+
	II	214	-		+	+
	III	332	650		+	+
	IV	274	2 710		+	+
30.10.58	I	162	-			
	II	145	-			
	III	237	-			
	IV	184	-			
11.11.58	I	207	-	14.11.58	+	+
	II	212	-		+	+
	III	345	-		+	+
	IV	274	-		+	+
20.11.58	I	115	-	20.11.58	+-	+
	II	121	-		+-	+
	III	136	-		+	+
	IV	112	-		+	+
28.11.58	I	416	-	28.11.58	-	+
	II	448	317		+	+
	III	602	118		+	+
	IV	512	516		+	+
5.12.58	I	361	-	5.12.58	-	+
	II	435	-		+	+
	III	532	-		+	+
	IV	483	-		+	+
12.12.58	I	418	-	12.12.58	-	+
	II	404	-		-	+
	III	393	730		+-	+
	IV	377	920		+	+
15.12.58	I	211	-			
	II	335	-			
	III	407	-			
	IV	338	4			
19. 1.58	I	425	-	22.1.59	-	+
	II	433	-		+-	+
	III	464	268		-	+
	IV	450	-		-	+

Tabelle Nr. 4 (Fortsetzung) Kuh Nr. 31

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
26.1.59	I	438	-			
	II	453	-			
	III	515	306			
	IV	340	514			
2.2.59	I	325	-	6.2.59	-	+
	II	397	-		+	+
	III	378	626		+	+
	IV	317	858		+	+
12.2.59	I	150	8			
	II	194	-			
	III	196	672			
	IV	147	1 450			
18.2.59	I	292	-			
	II	297	-			
	III	288	352			
	IV	217	1 686			
24.2.59	I	110	-	26.2.59	+	+
	II	100	-		+	+
	III	102	1 274		-	+
	IV	106	-		+	+
4.3.59	I	102	-			
	II	60	-			
	III	174	2 660			
	IV	175	3 564			
9.3.59	I	74	-			
	II	56	-			
	III	40	110			
	IV	52	1 300			
12.3.59	I	80	-			
	II	64	-			
	III	39	70			
	IV	45	386			

Auswertung der Tabelle:

Nach einer Trächtigkeitsdauer von 245 Tagen hat die Kuh verkalbt. Die erste Milchuntersuchung erfolgte am 13.10.58; auch bei diesem Tier war die Keimausscheidung nicht von konstanter Stärke. Nach Perioden unterschiedlicher Ausscheidung, z.B. am 13.10., 17.10., 23.10. kam eine Zeit, in der in der Milch keine Keime nachweisbar waren (13.10., 11.11., 20.11.). Am 28.11. bildeten sich wieder Kolonien; dagegen war das Ergebnis der Untersuchung am 5.12. negativ. Von diesem Zeitpunkt an erfolgte eine wechselnde Ausscheidung bis zum Ende der Untersuchung. Die Höchstzahl der Kolonien pro ml betrug 2 710. Gerade bei dieser Kuh war auffallend, daß vorwiegend die hinteren Euterviertel Keime ausschieden.

Die Schwankungen der Abortus-Bang-Ringprobe und der Frischmilch-Schnell-Agglutination stimmen nicht immer genau mit der Höhe der Keimzahlen überein.

Noch nach 5 Monaten schied das Tier Keime mit der Milch aus.

Tabelle Nr. 5

Kuh Nr. 48 Deckdatum unbekannt
Gekalbt am 9. 2. 59

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	milchserologischer Befund Datum	ABR	FMSA
10. 2. 59	I	20	6 714			
	II	20	4 321			
	III	20	4 298			
	IV	20	5 622			
11. 2. 59	I	20	5 834			
	II	20	2 688			
	III	20	3 736			
	IV	20	14 960			
16. 2. 59	I	20	1 336			
	II	20	1 036			
	III	20	388			
	IV	20	1 368			
19. 2. 59	I	1 062	636	20. 2. 59	+	+
	II	1 084	732		+	+
	III	1 334	3 080		+	+
	IV	1 225	8 216		+	+
24. 2. 59	I	735	483			
	II	604	694			
	III	876	1 500			
	IV	992	2 730			
27. 2. 59	I	1 217	550	26. 2. 59	+	+
	II	1 778	324		+	+
	III	1 960	500		+	+
	IV	1 440	3 936		+	+
4. 3. 59	I	1 300	28			
	II	1 844	20			
	III	1 859	150			
	IV	1 478	568			
9. 3. 59	I	1 050	4			
	II	384	14			
	III	1 273	200			
	IV	1 014	304			

Auswertung der Tabelle:

Am 9. 2. 59 hat die Kuh verkalbt, einen Tag nachher wurde die erste Milchprobe entnommen. Schon am ersten Tag scheidet das Tier Brucellen aus; die Kuh ist mit 14 960 Kolonien pro ml Milch die stärkste Ausscheiderin der untersuchten Tiere. Wegen der hohen Kolonienzahlen mußten geringere Mengen der entnommenen Milch auf Platten ausgestrichen werden. Bis zum Ende der Untersuchung war ein merkliches Absinken der Keimausscheidung festzustellen.

Auffallend bei dieser Kuh ist, daß sie durch das linke Hinterviertel mehr Keime ausscheidet als durch die anderen Euterviertel. Der milchserologische Befund war positiv.

Um Mittelwerte zu erhalten, die dem Keimgehalt eines Durchschnittsgemelkes entsprechen, wurden bei den zuvor beschriebenen Versuchen Ausstriche von der gesamten, gründlich durchmengten Milch eines jeden einzelnen Viertels angefertigt.

Da die Beantwortung der Frage, ob mehr Keime im Anfangs-, Mittel- oder Endgemelk enthalten sind, ebenfalls eine Rolle spielt, wurden auch in dieser Hinsicht Versuche unternommen. Sie ergaben, wie auch Lerche (40) (1932) und Proescholdt (47) (1932) und andere Autoren beschrieben haben, daß das Endgemelk die meisten Keime enthält. Als typisches Beispiel kann die Versuchsreihe mit der Milchprobe der Kuh Nr. 48 angesehen werden.

Datum der Untersuchung	Euterviertel	ges. Milchmenge in ml	nachgewiesene Kolonienzahl im ml	
10. 3. 59	I	20	6	
	II	20	8	
	III	20	2	Anfangsgemelk
	IV	20	230	
	I	880	4	
	II	914	146	Mittelgemelk
	III	1 117	6	
	IV	1 000	36	
	I	20	386	
	II	20	536	
	III	20	222	Endgemelk
	IV	20	414	

Wie diese fünf bangpositiven Kühe wurden auch die übrigen 10 Tiere überwacht. Mit Ausnahme der Kuh Nr. 44 konnten bei ihnen keine Brucellen

in der Milch nachgewiesen werden. Die gleichzeitig vorgenommenen milchserologischen Untersuchungen ergaben teils negativ, teils positiv ausfallende Werte.

Die Untersuchungsergebnisse für die Kuh Nr. 44 wurden nicht in Tabellenform angeführt, da das Tier während der sich über Monate hinaus erstreckenden Untersuchungen nur an einem Tag Brucellen mit der Milch ausschied. Die Kuh hat am 7.1.59 verkalbt. Der Brucellennachweis aus der Nachgeburt war positiv. Die erste Milchuntersuchung erfolgte am 10.1.59. Erst am 30.1. konnten die Keime in der Milch nachgewiesen werden. Auch dieses Tier schied die Abortus-Bang-Bakterien nur durch die Hintervierte1 aus. Die Kolonienzahl betrug 742 pro ml. Vom 31.1. ab erfolgte keine Keimausscheidung mehr. Die Abortus-Bang-Ringprobe war negativ, die Frischmilch-Schnell-Agglutination positiv.

In den Nachgeburten aller 15 Tiere wurden Brucellen festgestellt. 12 Kühe hatten verkalbt, während nur 6 von diesen auch Keime durch die Milch ausschieden. Es können also auch Fälle vorkommen, bei denen trotz Keimnachweis in der Nachgeburt und erfolgten Abort nur vereinzelt oder gar keine Keime mit der Milch ausgeschieden werden.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die vorgenommenen Untersuchungen ermöglichen es, zu folgenden Fragengruppen Stellung zu nehmen:

1. Welchen Wert hat der kulturelle Versuch zur Feststellung der Keimausscheidung mit der Milch im Vergleich zum Tierversuch?

2. Scheiden Kühe, die aufgrund einer Banginfektion verkalben, immer Keime mit der Milch aus? Ist der Abort Voraussetzung für die Ausscheidung?

3. Wann werden die ersten Brucellen nach erfolgter Geburt, Frühgeburt oder Abort mit der Milch ausgeschieden?

4. Wie erfolgt die Ausscheidung? Scheiden alle 4 Viertel gleichzeitig und gleichviel Keime aus, und wie lange bleiben die Tiere Keimausscheider?

5. Sind bei ausscheidenden Tieren mehr Keime im Anfangs-, Mittel- oder Endgemelk zu finden?

6. Wie hoch ist die ausgeschiedene Keimzahl?

7. Bestehen zwischen Höhe der Milchleistung und Keimausscheidung Beziehungen?

8. Kann man aus den Ergebnissen der Abortus-Bang-Ringprobe und der Frischmilch-Schnell-Agglutination Rückschlüsse auf den Brucellengehalt der Milch ziehen?

1. Welchen Wert hat der kulturelle Versuch zur Feststellung der Keimausscheidung mit der Milch im Vergleich zum Tierversuch?

In der Literatur wird dem Tierversuch zum Nachweis der Abortus-Bang-Infektion eine große Bedeutung zugemessen. Aber auch ihm haften einige Mängel an, die wiederum durch die kulturelle Nachweismethode vermieden werden können. Besonders die Einfachheit des Versuches, die Billigkeit und die Schnelligkeit, mit der der kulturelle Versuch zum Ergebnis führt, sind es, die diesen vor dem Tierversuch auszeichnen. Sollen neben qualitativen auch gleichzeitig quantitative Keimbestimmungen durchgeführt werden, dann muß sowieso auf den kulturellen Nachweis zurückgegriffen werden.

Welche Art von Nährböden dafür verwendet werden soll, wird von den einzelnen Forschern sehr unterschiedlich beurteil (s. Literaturbesprechung). Für unsere Versuche wurde der Nährboden "Milieu W" nach Kuzdas und Morse (38) gewählt, dem anstelle des Kristallvioletts Tween 40 als Emulgator zugesetzt wurde, während Circulin wegblieb.

Gerade für die Beantwortung der Fragen dieser Arbeit war es unerläßlich, dem Kulturversuch den Vorrang zu geben.

2. Scheiden Kühe, die aufgrund einer Banginfektion verkalben, immer Keime mit der Milch aus? Ist der Abort Voraussetzung für die Ausscheidung?

Uterus und Euter sind die beiden bevorzugten Organe, in denen sich die Brucellen bei einer Banginfektion ansiedeln. Der Uterus, dessen Besiedlung mit Brucellen zum Abort, zur Frühgeburt oder zur Geburt lebensschwacher Kälber führt, reinigt sich im Laufe mehrerer Tage nach Abgang der Nachgeburt, während gleichzeitig die Bakterien sich im Euter festsetzen können. Nimmt man an, daß sich mit einer stärkeren Besiedlung des Uterus die Möglichkeit eines Abortes vergrößert, andererseits auch später eine stärkere Euterbesiedlung erfolgt, so könnte der Abort als Maßstab für die Brucellenausscheidung mit der Milch gewertet werden. Es wäre bei jedem Abort mit einer Keimausscheidung durch den Euter zu rechnen. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen folgendes Bild:

Bei allen 15 Kühen konnten aus der Nachgeburt Brucellen gezüchtet werden. Die Keimausscheider unter den untersuchten Kühen hatten alle Frühgeburten und brachten lebende, wenn auch zum Teil lebensschwache Kälber zur Welt.

Von den 9 nicht ausscheidenden Kühen haben 3 Tiere abortiert. Kühe, die verkalbt haben, müssen also nicht immer Keimausscheider sein. Für oder gegen eine Keimausscheidung kann der Abort nicht unbedingt als Anzeichen gewertet werden. Es ist aber anzunehmen, daß bei einem Abort durch starke Keimbesiedelung des Uterus, die Möglichkeit einer höheren Keimausscheidung durch das Euter größer ist als bei einer schwachen Keimbesiedlung.

3. Wann werden die ersten Brucellen nach erfolgter Geburt, Frühgeburt oder Abort mit der Milch ausgeschieden?

Wesentlich zur Verhütung weiterer Infektionen durch Abortus-Bang-Bakterien ist es, zu wissen, wann die ersten Bang-Bakterien nach Einsetzen der Laktation ausgeschieden werden. Proescholdt (47), Stockmayer (60) und andere Forscher haben festgestellt, daß sogar trockenstehende Kühe im Eutersekret Brucellen enthalten können. Bei unseren Versuchen konnten im Kolostrum Abortus-Bang-Bakterien nachgewiesen werden. Beispielsweise wurden in der Kolostralmilch der beiden Hintervierte1 der Kuh Nr. 4 einen Tag nach dem Kalben bis zu 26 Keime pro ml Milch gefunden. Ebenso schied die Kuh Nr. 48, die am 9.2. gekalbt hatte, bereits am 10.2. durch alle 4 Viertel Brucellen aus. Am 11.2. wurden die Keime zahlenmäßig festgehalten. Die Werte zwischen 2 688 und 14 960 pro ml Milch zeigen, wie beträchtlich diese Keimausscheidung schon gleich nach Laktationsbeginn sein kann.

4. Wie erfolgt die Ausscheidung? Scheiden alle 4 Viertel gleichzeitig und gleichviel Keime aus? Wie lange bleiben die Tiere Keimausscheider?

Den Ergebnissen unserer Untersuchungen nach lassen sich keine allgemeingültigen Regeln über die Keimausscheidung mit der Milch aufstellen. Wohl schieden alle von uns untersuchten Keimausscheider meist bald nach Einsetzen der Laktation Keime aus, die Ausscheidung durch die einzelnen Viertel und die Keimzahlwerte waren aber im weiteren Verlauf der Keimausscheidung sehr unterschiedlich. Haben anfangs alle 4 Viertel gleich stark Brucellen mit der Milch ausgeschieden, wie bei der Kuh Nr. 48 am 11.2. oder 16.2., oder bei der Kuh Nr. 2 am 1.10., so können diese Werte schon in den nächsten Tagen stark sinken. Dies zeigen die Probeentnahmen bei der Kuh Nr. 48 am 19.2., 27.2. und am 4.3. Andererseits kann die Keimausscheidung durch einzelne Viertel völlig sistieren (z.B. Kuh Nr. 2

am 8.10. und 14.10.). Andere Tiere (z.B. Kuh Nr. 29, Kuh Nr. 4 oder Kuh Nr. 44) schieden gleich nach Beginn der Laktation nur ganz wenige Keime aus, teilweise nur auf dem einen oder dem anderen Viertel, während die übrigen Viertel negative Milchproben ergaben. Für Schwankungen zwischen hohem Keimgehalt und Freisein der Milch von Brucellen liefert auch Kuh Nr. 2 ein charakteristisches Beispiel. So kann man generell sagen, daß die Ausscheidung der Brucellen mit der Milch banginfizierter Kühe sowohl der Häufigkeit als auch der Zahl nach sehr unterschiedlich ist.

Eine gewisse Regelmäßigkeit ließ sich jedoch beim Vergleich der Keimzahlen in den Milchproben der Hintertiertel feststellen. Es fällt auf, daß die Kühe teilweise nur durch die Hintertiertel Brucellen ausschieden (z.B. Kuh Nr. 31 und die Kuh Nr. 29 am 22.10.). Außerdem sind bei fast allen ausscheidenden Tieren in der Milch der Hintertiertel die meisten Abortus-Bang-Bakterien enthalten. Daß die Daue: der Brucellenausscheidung sehr lange sein kann, ergibt sich aus meinen Untersuchungen ebenfalls. Über 5 Monate hin konnte die Ausscheidung eines Teils der Tiere verfolgt werden. Leider mußten die Kühe dann aus wirtschaftlichen Gründen abgegeben werden, so daß es nicht möglich war, sie weiter zu beobachten. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen aber doch, daß man bei Keimausscheidern nicht mit einem dauernden Sistieren der Ausscheidung nach einer bestimmten Zeit rechnen kann. Viel wahrscheinlicher ist es, wie Stockmayer (60), Bang und Bendixen (2) und andere maßgebliche Autoren beschrieben haben, daß die Kühe über 2 und mehr Laktationsperioden hinaus die Keime im Euter beherbergen können. Es kann also immer wieder zur Keimausscheidung kommen, auch wenn zwischendurch keine Keime ausgeschieden werden.

5. Sind bei ausscheidenden Tieren mehr Brucellen im Anfangs-, Mittel- oder Endgemelk zu finden?

Die Untersuchungen zur Beantwortung dieser Frage ergaben wie auch Lerche 39) (1929), Proescholdt (47) (1932) und andere Autoren beschrieben haben, daß das Endgemelk die meisten Keime enthält.

6. Wie hoch ist die ausgeschiedene Keimzahl?

Die meisten Brucellen wurden in der Milch der Kuh Nr. 48 gefunden. Am 11.2. d.h. 2 Tage nach dem Kalben wuchsen auf dem Probemilchausstrich vom linken Hintervierte1 14 960 Kolonien. Andere Werte lagen bei 7 899, 5 000, 3 654 und 2 660 Kolonien pro ml Milch.

Vereinzelt wurden aber auch nur wenige Brucellen in der Milch nachgewiesen. So schwankten die Kolonienzahlen im Laufe der Untersuchungen zwischen einigen wenigen und 15 000 pro ml Milch. Man sollte aber dabei bedenken, daß diese Ergebnisse nur Mindestzahlen sind. In Wirklichkeit können weit mehr Brucellen in der Milch enthalten sein als es durch die bakteriologischen Methoden nachzuweisen möglich war. Da zudem jede Kolonie ein Konglomerat mehrerer Abortus-Bang-Bakterien ist, ist die wirkliche Keimzahl in der Milch viel höher.

Die Untersuchungen zeigen somit klar, wie gefährlich die Keimausscheidung durch banginfizierte Kühe für die Weiterverbreitung der Seuche und auch für den Menschen sein kann. Bei 15 000 Kolonien pro ml Milch würde eine banginfizierte Kuh mit einer durchschnittlichen Tagesmilchleistung von 20 Litern mindestens 300 000 000 Keime mit der Milch ausscheiden.

7. Bestehen zwischen Höhe der Milchleistung und Keimausscheidung Beziehungen?

Um diese Frage beantworten zu können, wurde bei den vorgenommenen Untersuchungen auch laufend das gesamte Gemelk gemessen. Im Vergleich zur durchschnittlichen Tagesleistung einer guten Milchkuh sind die hier angeführten Milchwerte sehr gering. Wie schon anfangs erwähnt, waren es meist Kalbinnen mit Frühgeburten und die Tiere wurden nicht auf Milchleistung gefüttert. Das gegebene Futter sollte rein den Erhaltungsbedarf decken. Ob mit gesteigerter Milchleistung die Keimzahlen in der Milch ansteigen, ließ sich durch unsere Versuche nicht feststellen. Wohl aber ist aus dem Verhalten des Tierkörpers gegenüber anderen Krankheitserregern anzunehmen, daß eine Kuh, die auf hohe Milchleistung gezüchtet wird, ein anfälligeres Euter gegenüber Krankheitserregern hat als eine Kuh mit geringerer Milchleistung. Die Anfälligkeit des Euters gegenüber Bang-Bakterien wäre bei solchen Leistungstieren größer; das Euter würde stärker besiedelt, und es wäre dann auch mit einer stärkeren Ausscheidung zu rechnen.

7. Kann man aus den Ergebnissen der Abortus-Bang-Ringprobe und der Frischmilch-Schnell-Agglutination Rückschlüsse auf den Brucellengehalt der Milch ziehen?

Etwa zur Zeit unserer Untersuchungen wurden Milchproben der gleichen Tiere mit Hilfe der Abortus-Bang-Ringprobe und der Frischmilch-Schnellagglutination getestet. So war es möglich, die dabei gefundenen Ergebnisse mit den Keimzahlen zu vergleichen (s. auch Tabellen), um eventuelle Beziehungen festzustellen. Es zeigte sich, daß auch die Werte der Abortus-Bang-Ringprobe und Stärke der Agglutination sehr variierten, beides aber nicht immer genau mit den Keimzahlschwankungen einherging. Allgemein kann aber gesagt werden, daß bei stark positiver Abortus-Bang-Ringprobe und bei sehr deutlicher und rascher Agglutination die Möglichkeit einer Ausscheidung und die Zahl der ausgeschiedenen Brucellen zunimmt. Es kam aber auch vor, daß bei geringem Agglutiningehalt der Milch zeitweise sehr hohe Keimzahlen auftraten. Seltener war allerdings der umgekehrte Fall, in dem bei geringem oder fehlendem Keimgehalt ein sehr hoher Agglutiningehalt gefunden wurde. Grundsätzlich muß daher wohl bei Vorliegen positiver Milchproben mit einer Euterbesiedelung durch Brucellen und damit auch mit einer Keimausscheidung gerechnet werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Frage der Brucellenausscheidung in der Milch wurde an 15 experimentell mit Brucella-Abortus infizierten Kalbinnen untersucht. Zum Nachweis der Brucellen wurde das Medium W von Kuzdas und Morse in der Modifikation des Vet. Bakteriolog. Instituts der Universität Zürich benützt.

2. Bei 6 der 15 infizierten Rinder wurde im Anschluß an den Abort bzw. einer Frühgeburt eine Ausscheidung von Brucellen in der Milch festgestellt. Die Ausscheidung setzte sofort mit Beginnen der Laktation ein und war in der Regel bis zum Abschluß der Versuche 5 Monate lang nachweisbar.

3. Die Ausscheidung der Brucellen verlief nur bei einem Tier kontinuierlich. Die anderen Tiere zeigten während der Beobachtungszeit Phasen kürzerer oder längerer Dauer, in denen eine Brucellenausscheidung nicht festgestellt werden konnte.

4. Die infizierten Rinder schieden die Brucellen durch einzelne Euterviertel oder durch alle 4 Viertel aus. Die Ausscheidung erfolgte durch die Hintervierte häufiger als durch die Vorderviertel.

5. Die pro ml Milch gefundenen Koloniezahlen schwanken zwischen einigen wenigen und 15 000.
Der Keimgehalt des Endgemelks war in der Regel höher als der des Anfangs- bzw. Mittelgemelks. Auch wurden in der Milch der Hintervierte gewöhnlich mehr Brucellen ermittelt als in der Milch der Vorderviertel.

6. Zwischen der Höhe der Milchleistung und der Keimausscheidung konnten keine Beziehungen festgestellt werden.

7. Wenn Brucellen in der Milch gefunden wurden, fielen gewöhnlich auch milchserologische Untersuchungsverfahren auf Brucellose (ABR, Frischmilchschnellagglutination) positiv aus. Hohe Keimzahlen traten dabei oft zusammen mit stark positivem Ausfall der ABR und FMSA auf. Ausnahmen kamen aber vor.

8. Die Untersuchungen lassen klar erkennen, daß angesichts des hohen Erregergehalts und der langen Dauer der Keimausscheidung die Milch banginfizierter Rinder für Mensch und Tier eine gefährliche Ansteckungsquelle darstellt.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bang, O. und Bendixen, H. Chr.: Om Forekomsten af Abortbakterien (Bact. abortus-Bang) in Maelk af Koer, der har kastet. Medlemsblad f. d. danske Dyrlaegeforing 11, 145; Ref. Berlin. Tierärzl. Wschr. 39, 647 (1928)

2. dieselben Untersuchungen über latente Euterinfektionen beim Rind, hervorgerufen durch Abortus-Bang-Bakterien. Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. 42, 81 (1932)/ Intern. Milchw. Kongreß, Kopenhagen 1931, 2. Sektion Vorträge 37 - 77. 157.

3. Bang, O. und Strieboldt: Die Ätiologie des seuchenhaften (infektiösen) Verwerfens. Z. Tiermed. 1, 241 (1897)

4. Baumgartner, H.: Erfahrungen mit der Brucellenzüchtung auf dem "Milieu W". Schweiz. Arch. Tierhk. 97, 358 (1955).

5. Börger, K.: Vergleichende Prüfung einiger Nährböden für die Brucellosezüchtung. Milchwissenschaft 12, 392 (1957)

6. Carpenter: Veterin. med. 21, 363 (1926)/ Cornell Vet. 16, 133 (1926)

7. derselbe Cornell Vet. 17, 276 (1927)

8. Carpenter u. Boak: Brucella abortus in milk and dairy products. Amer. J. publ. Health 743 (1927) Zbl. Bakter. I Ref. 93, 164 (1927)

9. Carpenter, C. M. u. Parshall, C. J.: Studies of milk from cows showing no agglutinins for brucella abortus in their blood serum. Cornell Vet. 17, 234 (1927).

10. Cooledge, L. H.: A study of the presence of Bakterium-Abortus-Bang in milk. Michig. Agric. Coll. Exp. stat. techn. Bull. 33, 37 (1916).

11. Evans, A. C.: Bacillus abortus in market milk. Journ. Wash. Acad. of Sience 5, 122 (1915).

12. dieselbe The presence of bacillus abortus in milk. Zbl. Bakter. I Ref. 63, 526 (1915).

13. Eyre, J. W. H.: Mittelmeerfieber. Hdb. d. path. Mikroorg. 2. Auflage 4, 421 (1912).

14. Fleischner, E. C. und Meyer, K. E.: Oberservations on presence of the Bacillus abortus bovinus in certified milk. Amer. J. Dis. Childr. 14, 157 (1917).

15. Frei, W.: Beziehungen zwischen Mastitis und Bang-infektion beim Rind. Schweiz. Arch. Tierhk. 76, 497 (1934).

16. Gargani, G. und Domini, M. V.: Zitiert nach Wundt. Rivista Italiana d. Igiene 14, 244 (1954).

17. Gilman, H. L.: Further studies on the relation of the milk-agglutination titre to the elimination of Brucella Abortus from the udder. Cornell Vet. 20, 106 (1930).

18. Hart, G. H. und Traum, J.: The relation of the subcutaneous administration of living bacterium abortus to the immunity and carrier problem of bovine infectious abortion. J. Agric. Exper. Stat. Berkeley California Techn. 19, 50 (1919).

19. Haupt, H.: Kurze Mitteilung über einen zur Züchtung des Bacterium abortus Bang geeigneten Nährboden. Zbl. f. Bakt. I. Org. 120, 130 (1931).

20. Hess, E.: Anweisung zur Züchtung von Brucella-Abortus (unveröffentlicht).

21. derselbe Zitiert nach Löffler-Moroni-Frei (42).

22. Hess, E. und Ruosch, W.: Zur Diagnostik der Mastitis brucellosa. Schweiz. Z. Bakt. u. Path. 15, 752 (1952)

23. Hoeden v. d.: Bijdrage tot de epidemiologie der febris undulance von den mensch in Nederland, een Oderzoek naar het voorkommen van Brucella Abortus Bang in melken boter. Tigd. schr. v. Diergeneesk, 56, 217 und 295, Ref. Berlin Tierärztl. Wschr. 6, 87 (1930)

24. Houdinière: Le lait. Jordan Industri Med. 17, 176 (1949) 25, 247/248 (1945).

25. Huddleson, J. F.: Brucellosis in man and animals. New York 1943/Michig. Agric. Coll. Exp. Stat. Techn. 49, 25 (1920).

26. Huddleson, J. F., Hasley, D. E. and Torrey, J. P.: Further studies on the isolation and cultivation of Br. abortus Bang. Journ. of inf. Dis. 40, 352 (1927).

27. Karsten: Das seuchenhafte Verkalben mit Berücksichtigung der Frage nach Zweckmäßigkeit veterinärpolizeilicher Maßnahmen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 37, 801 (1929).

28. derselbe Über das Vorkommen und den Nachweis von Abortusbakterien in der Milch der Kühe. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 40, 689 (1932).

29. Karsten u. Bischoff: Weitere Untersuchungen über den Abortusnachweis mit der Milch. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 41, 593 (1933).

30. Karsten u. Bischoff: Die Feststellung der Abortus-Bang-Infektion des Rindes durch die Untersuchung der Milch. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 42, 465 (1934).

31. Kästli, P.: Zitiert nach Löffler-Moroni-Frei (42).

32. Kerby, G.P. und Calder, R.M.: Zitiert nach Wundt.

33. King und Caldwell: Amer. J. med. Sc. 178, 115 (1929).

34. Klimmer, M.: Der neueste Stand der Forschung über das Bang'sche Bakterium. Erg. Hyg. 13, 327 (1932).

35. derselbe Zur selektiven Züchtung der Abortus-Bang-Bakterien aus einem an Begleitbakterien reichen Material (Milch). Arch. Tierhk. 73, 325 - 359 (1938).

36. Klimmer, M. und Haupt, H.: Zitiert nach Wundt (65).

37. Kroll, A.: Essai d'isolvement du Bakt. Abort. Bang du lait de la vache. Arch. Science biol. 30, 585 (1930).

38. Kuzdas, D. und Morse, E.V.: A selective medium for the isolation of Brucellae from contaminated materials. J. of Bact. 4, 66 (1953).

39. Lerche, M.: Versuche zur Abortus-Bang-Infektion des Rindes. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 43, 680 (1929).

40. derselbe — Welches Gemelk eignet sich am besten zum Nachweis der Abortus-Bang-Bakterien? Tierärztl. Rundschau 17, 279 (1932).

41. derselbe — Abortus-Bang-Bakterien in Milch und Milchprodukten vom Rind. Zschr. f. Infek. d. Haust. 38, 253 (1931).

42. Löffler, W., Moroni, L., Frei, W.: — Die Brucellose als Anthropozoonose. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955).

43. Marucco, G.: — Pathologica 31, 389 (1939) zitiert nach Wundt.

44. Oijen, C.E. und van Hofstra, K.: — Tidschr. v. Diergeneesk 61, 394 und 470 (1934).

45. Plate, G.: — Die Feststellung von Brucella abortus in der Milch bei der Milchüberwachung. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 34, 537 (1934).

46. Proescholdt, O.: — Über die Ermittelung von Rinderbeständen mit Abortus-Bang-Infektion durch die Blutuntersuchung der Meerschweinchen, die zum Zwecke des Tuberkelbazillennachweises mit Milch, Uterussekret und Bronchialschleimproben geimpft waren. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 3, 43 (1926).

47. derselbe — Die Feststellung der Ausscheidung von Abortus-Bang-Bakterien mit der Milch. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 43, 673 (1932).

48. Sackmann, W.: — Die Bedeutung der chronischen Tierseuchen für die Milchwirtschaft. Vet. med. Diss. u. Freischrift, Zürich (1953).

49. Sanders, E. und Huddleson, J.F.: — The influence of atmospheric gases on the multiplication of Brucella. Amer. J. Vet. Res. 11, 70 (1950).

50. Schroeder, E.C.: Pure milk production and the abortion Bazillus. Amer. Vet. Review 44, 467 (1914).

51. Schroeder, E.C. und Cotton, W.E.: The Bacillus of infectious abortion found in milk. 28, Annual Rep. Bur. of animal Industry. Washington 1913, S. 139.

52. dieselben Some fact about abortion diseases. J. of Agrc. Res. 9, (1917).

53. Schwarz: Zum Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch. Z. Fleisch- u. Milchhygiene 39, 175 (1929).

54. Smith, J.: Excretion of Br. Abortus in milk. J. Comp. Path. and Therap. 47, 125 (1934).

55. Smith, J. und Fabyan, M.: Über die pathogene Wirkung des Bazillus Abortus-Bang. Zbl. Bakter. I Orig. 61, 549 (1912).

56. Stafseth, H.J.: Mich. Stat. Techn. Bull 49, (1920) zitiert nach Wundt (65).

57. Steck, W.: Über das Vorkommen des Bakterium Abortus infektiosa Bang in der Milch gesunder Kühe Schweiz. Arch. Tierhk. 60, 547 (1918).

58. derselbe Beiträge zur Kenntnis der Bakterienansiedlung im normalen Euter, Schweiz. Arch. Tierhk. 62, 525 (1920).

59. Stickel, J.F. und Meyer, K.F.: J. inf. Dis. 23, (1918) zitiert nach Wundt (65).

60. Stockmayer, W.: Untersuchungen über die Bangbakterieninfektion des Euters, über den Verlauf der Ausscheidung der Bangbakterien und ihre Feststellung. Infektionskr. Haust. 49, 46 (1936).

61. Tullberg, K.: Undersökningar över sambandet mellan blodserument agglutinations värde a ena sidan och mjölkens halt av abort baciller äandra sidan Vid sjunkdomen smitt sam kastning hos nötkreatur. Skand. vet. Tdskr. 12, 389 (1931).

62. Tweed, R. L.: The relation of high cellular counts to bacterium abortus infection of the udder. Agric. Exp. Stat. Mich. Techn. Bull. 61, 1 - 28 (1923).

63. Wegner, K. H. und Börger, K.: Beitrag zur Selektivfärbung von Brucellen. Zbl. Baktl. Orig. 167, 415 (1957).

64. Winkler: Über die Ausscheidung des Bazillus Abortus Bang mit der Milch. Vet. med. Dis. Dresden-Leipzig (1919).

65. Wundt, W.: Untersuchungen zur Entwicklung leistungsfähiger Brucellennährböden. Zbl. Bakter. I. Orig. 169, 391 (1957).

66. Zeller, H.: Weitere Untersuchungen über das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Arch. f. Tierhk. 49, 65 (1923).

67. Zwick, W.: Die Bekämpfung des infektiösen Abortes durch Impfungen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 46, 705 (1931)

68. derselbe Forschungen über das seuchenhafte Verwerfen des Rindes während der letzten 2 Jahrzehnte. Arb. d. Reichsgesundheitsamtes 57, 360 (1926).

69. Zwick, W. und Krage: Über die Ausscheidung von Abortus-Bang-Bazillen mit der Milch infizierter Tiere. Berlin, Tierärztl. Wschr. 3, 41 (1913).

70. Zwick, W. und Zeller, H.: Über den infekt. Abortus des Rindes, Arb. d. Kais. Gesundheitsamtes 43, 1 (1912).

Zum Abschluß meiner Arbeit möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Meyn für die Überlassung des Themas und für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten zur Durchführung der Versuche bedanken.

LEBENSLAUF

Am 16. März 1934 wurde ich als Sohn des Rechtsanwaltes Dr. Ernst-Erich Schwerdtfeger und seiner Ehefrau Gerda, geb. Schulze, in Hildesheim geboren.

1936 zogen meine Eltern nach Straußberg bei Berlin. Ich besuchte dort von 1940 - 1944 die Volksschule und anschließend bis zum Sommer 1946 die Oberrealschule. 1946 folgte ich meinem Vater nach Westdeutschland, besuchte bis Ostern 1947 die Oberrealschule in Bad Kissingen und kam dann in das Staatliche Landschulheim Marquartstein in Oberbayern. Dort habe ich im Juni 1953 die Reifeprüfung bestanden.

Zur Finanzierung meines Studiums mußte ich zunächst praktisch arbeiten und war dabei u. a. als Tierpfleger im Circus Brumbach tätig. Am 3. November 1954 begann ich mit meinem ersten Studiensemester in München. Mein zweites Semester belegte ich in Gießen. Ich war damals Werkstudent und hatte in Frankfurt eine lohnende Anstellung bekommen. Nachdem ich das 3. und 4. Semester in Hannover studiert hatte, bestand ich dort auch das Physikum.

Die klinischen Semester habe ich in München studiert. Am 9. August 1960 absolvierte ich das letzte Fach der Tierärztlichen Prüfung.

Ich bin evangelisch-lutherischer Konfession und verheiratet. Seit September absolviere ich meine Praktikantenzeit bei einem Lehrtierarzt.